

PRAKTYKA LABORATORYJNA

ZDZISŁAW LARSKI

Odczyn zahamowania hemaglutynacji z wirusem pomoru rzekomego kur, poddanym działaniu eteru

Z II Pracowni Wirusologicznej Instytutu Wet. w Puławach
Kierownik: dr ZDZISŁAW LARSKI

Odczyn zahamowania hemaglutynacji (HI) z wirusem pomoru rzekomego drobiu jest bardzo prostą, nadającą się do masowych badań, szybką w wykonaniu i tanią metodą umożliwiającą określenie poziomu przeciwciał w surowicy. Pozwala zatem zorientować się w stanie immunologicznym badanego stada ptaków. Dane te pomagają oznaczyć właściwy termin i konieczność rewakcytacji przy stwierdzeniu niskiego poziomu przeciwciał; przy ich wysokim poziomie w stadzie uprzednio szczepionym umożliwiają wykluczenie pomoru rzekomego przy rozpoznawaniu różnicowym w przypadkach schorzeń o podobnych objawach. Mogą również pomóc w postawieniu rozpoznania przy przewlekłym przebiegu choroby lub u ozdrowieńców.

Oczywiście w badaniach bardziej dokładnych konieczne jest ponadto użycie próby seroneutralizacji (SN) na zarodkach kurzych, lub w hodowlach tkanekowych. Te ostatnie metody są nieco trudniejsze w wykonaniu, a zatem mniej przydatne do badań masowych.

Zarówno odczyn zahamowania hemaglutynacji jak i odczyn seroneutralizacji zawodzą jednak w pewnych przypadkach i wyniki ich nie dają nam właściwego obrazu stanu immunologicznego badanych ptaków. *Levine* i *Fabricant* (5) stwierdzili, że niekiedy przy ujemnym mianie HI ptaki szczepione wykazują pełną odporność na zakażenie kontrolne (challenge) dużymi dawkami wirusa. *Zuffa* i *Skoda* (14) obserwowali szybki spadek poziomu przeciwciał HI po szczepieniu szczepem B, których nie można było wykazać już w 3 miesiące po szczepieniu, ale odporność na challenge utrzymywała się jeszcze przez dalsze 3 miesiące. *Raggi* i *Lee* (9) stwierdzili to samo po szczepieniu donosowym tym szczepem; miano HI opadło do wartości ujemnej już po 79 dniach, a miano SN u dużej ilości ptaków między 5 a 8 miesiącem po szczepieniu, jednakże wszystkie ptaki poddane zakażeniu kontrolnemu dużą dawką (200.000 LD₅₀) wirusa zjadliwego wykazywały pełną odporność. Podobne dane po użyciu szczepu F₁₀₇ uzyskali *Marek* i *Raszewska* (7). Być może, że ten typ kształtowania się poziomu przeciwciał nie jest charakterystyczny jedynie po szczepieniu szczepami lentogenicznymi, lecz brak dotychczas takich danych w odniesieniu do innych szczepów wirusa pomoru rzekomego.

Ogólnie można powiedzieć, że przy dodatnim mianie serologicznym ptak jest na pewno odporny, natomiast przy ujemnej reakcji serologicznej nie można z całą pewnością mówić o jego wrażliwości.

Pozostaje do wyjaśnienia, czy w przypadku istnienia odporności ptaka, u którego badanie serologiczne daje wynik ujemny, brak jest istotnie przeciwciał w surowicy, czy też nasze metody są zbyt mało czułe dla ich wykazania. Ponieważ zdaniem *Burneta* (2) odporność nabyta ma charakter bezwzględnie humoralny, należy przyjąć raczej tę drugą ewentualność.

Podobne trudności serologicznej diagnostyki zakażenia, jak i pomiaru poziomu przeciwciał po szczepieniu występują w medycynie ludzkiej przy grypie. Warianty antygenowe wirusa grypy A, wydzielone na Dalekim Wschodzie w 1957 r. i określone jako szczep azjatycki, jakkolwiek antygenowo ściśle spokrewnione ze szczepem A, wykazują jednak całkowicie odmienne powinowactwo do swoistych przeciwciał i to powoduje otrzymanie błędnych wyników

(cyt. wg 13). Dla usunięcia tych niedogodności *Werner*, *Sharma* i *Gogolski* (13) wprowadzili modyfikację odczynu HI, której istota polega na użyciu wirusa poddanego działaniu eteru. Przy badaniu 31 surowic ludzi szczepionych inaktywowanym szczepem azjatyckim grypy, ani jedna surowica nie wykazywała miana dodatniego w normalnym, standardowym odczynie, natomiast przy użyciu wirusa poddanego działaniu eteru stwierdzono w 16 surowicach tych ludzi znaczny (4-krotny i więcej) wzrost miana HI. Modyfikacja ta dała więc podniesienie czułości odczynu.

Ponieważ badań takich w odniesieniu do wirusa pomoru rzekomego brak, poniższa praca ma na celu określenie przydatności zmodyfikowanego odczynu dla serologicznej diagnostyki tego schorzenia. Podano również wyniki HI przy użyciu wirusa częściowo oczyszczonego riwanolem.

Badania własne

Szczepy wirusowe. Do badania surowic w odczynie HI używano szczepu Roakin, a przy badaniu wpływu eteru na aktywność hemaglutynacyjną również szczepów Hertfordshire, LaSota i F₁₀₇ wirusa pomoru rzekomego drobiu.

Działanie eteru na wirus. Używano metody *Wernera* i współpr. (13): do zlanego płynu odczynowego zarodków zakażonych wirusem dodawano eter do narkozy w ilości równej połowie objętości płynu wirusowego i mieszano w kolbce zamkniętej korkiem gumowym, na mieszadle magnetycznym, przez 2 godziny, w temperaturze pokojowej. Następnie przelewano do lejka rozdzielczego i po 1/2 godzinie oddzielano dolną fazę wodną zawierającą wirus.

Oczyszczanie wirusa przy pomocy riwanolu. Użyto metody własnej (12). Polega ona na działaniu roztworem riwanolu na płyn odczynowy zarodków zakażonych wirusem i uwolnieniu wirusa z powstałego osadu przez działanie 10% roztw. NaCl.

Odczyn zahamowania hemaglutynacji. HI wykonywano metodą *Beacha* (1) sposobem beta. Do rozcieńczeń nieinaktywowanych surowic w ilości 0,25 ml, dodawano 4 jednostki Ha wirusa szczepu Roakin w 0,25 ml objętości; nastawiano równocześnie odczyn z wirusem nie poddanym żadnym zabiegom (W), z wirusem poddanym działaniu eteru (WE) i oczyszczonym riwanolem (WR). Ten ostatni używany był tylko przy badaniu pierwszych 50 surowic. Mieszaninę wirusa i surowicy trzymano w temperaturze pokojowej 15 minut, po czym dodawano po 0,5 ml 0,75% krwinek kurzych. Wyniki odczytywano po około 40 minutach.

Wyniki doświadczeń

Działanie eteru na aktywność hemaglutynacyjną wirusa. Badano 4 szczepy wirusa z krwinkami kurzymi i krwinkami świnki morskiej. Wyniki przedstawione w tabeli 1 wykazują, że działanie eteru na wirus daje wzrost

aktywności hemaglutynacyjnej u wszystkich badanych szczepów.

Tabela 1

Szczepy wirusa	Miano hemaglutynacyjne		Stosunek Ha (K) do Ha (SM)
	Ha (K)	Ha (SM)	
Roakin	640	160	2
Roakin (E)	5120 (8x)	5120 (32x)	1
Roakin (R)	1280 (2x)	640 (4x)	2
LaSota	2560	320	8
LaSota (E)	5120 (2x)	2560 (8x)	0,5
F107	1280	320	4
F107 (E)	5120 (4x)	2560 (8x)	0,5
Hertfordshire	320	80	4
Hertfordshire (E)	1280 (4x)	1280 (16x)	1

(E) — szczep po działaniu eteru, (R) — szczep oczyszczony riwanolem, Ha (K) — miano Ha z krwinkami kury, Ha (SM) — miano Ha z krwinkami świnki morskiej, wartości w nawiasach — krotność wzrostu miana Ha po eterowaniu względnie oczyszczaniu riwanolem w porównaniu z mianem Ha szczepu wyjściowego.

Dla krwinek kurzych wzrost ten najbardziej zaznacza się u szczepu Roakin (miano 8-krotnie wyższe), a najmniej u szczepu LaSota, a dla krwinek świnki morskiej również najbardziej dla szczepu Roakin (32-krotny wzrost miana Ha). Dla kontroli poddawano działaniu eteru także płyn omocznioowy zarodków niezakażonych; nie wykazywał on żadnych własności hemaglutynacyjnych.

Wirus eterowany jest, praktycznie rzecz biorąc, pozbawiony własności zakaźnych. Omówienie śladowej zakaźności takiego materiału będzie przedmiotem osobnego doniesienia (3).

Oprócz wzrostu miana obserwowano ponadto u szczepów poddanych działaniu eteru wzrost aktywności enzymatycznej, co dawało szybszą elucję wyrażającą się zsuwaniem się krwinek do najniższego punktu dna próbki.

Szczep Roakin poddany działaniu eteru, przechowywany w lodówce zachowywał niezmienny poziom hemaglutynin przez 14 tygodni (ostatnie badanie). Pozostałych szczepów nie badano.

Wirus oczyszczony przy pomocy riwanolu wykazywał również 2—4-krotny wzrost miana Ha dla krwinek kurzych i krwinek świnki morskiej i zachowywał te własności przy przechowywaniu w lodówce przez 7 miesięcy (ostatnie badanie). Dane te odnoszą się do szczepu Roakin, innych szczepów nie oczyszczano tą metodą. Wirus oczyszczony riwanolem jest zakaźny w stopniu równym a nawet niekiedy nieco wyższym niż wyjściowy materiał. Szczegółowe wyniki badania zakaźności poszczególnych frakcji otrzymywanych przy oczyszczaniu będą omówione w osobnym doniesieniu (4).

Odczyn hamowania hemaglutynacji (HI). Łącznie przebadano 175 surowic z antyge-

nami „W” (wirus nie poddany żadnym zabiegom), „WE” (wirus eterowany), a 50 z nich również z antygenem „WR” (wirus oczyszczony riwanolem). Antygeny przygotowano wyłącznie ze szczepu Roakin.

Surowice pochodziły od kur w różnym wieku, szczepionych różnymi szczepami i będących ponadto w różnym okresie po szczepieniu. Był to więc materiał wysoce niejednorodny. Dla uzyskania możliwie dokładnego porównania, surowice zestawiono w grupy. Wyniki dotyczące różnic miana przedstawione w tabeli 2 wskazują na wzrost czułości odczynu przy użyciu wirusa eterowanego. Pozwoliło to na zakwalifikowanie 8 ujemnych i 24 wątpliwych wyników w odczynie standardowym, jako dodatnie, przyjmując miano 1:20 jako wątpliwe, a 1:40 i wyższe jako dodatnie. Wszystkie te ptaki były szczepione i należało przewidywać istnienie u nich odporności. U kur nieszczepionych próba HI dała wyniki ujemne ze wszystkimi antygenami.

Tabela 2

Charakterystyka	Ilość	Surowic wykazujących		
		Zgodność wyników	HI wyższe z „WE“	HI wyższe z „W“
Surowice ptaków szczepionych szczepami mezogenicznymi (Roakin, Hertfordshire)	97	18 (19%)	73 (75%)	6 (6%)
Surowice ptaków szczepionych szczepami lentogenicznymi (LaSota, F107)	48	7 (15%)	41 (85%)	—
Surowice kurcząt 6-tyg. od kur szczepionych	18	—	18	—
Surowice ptaków nieszczepionych	12	12	—	—
Razem	175	37 (21%)	132 (76%)	6 (3%)

W przypadkach wyższego miana z „WE” było ono wyższe 2-krotnie w 67 surowicach, 4-krotnie w 37 surowicach, 8-krotnie w 20 surowicach, 16-krotnie w 7 surowicach i 32-krotnie w 1 surowicy. Natomiast w 6 surowicach wykazujących wyższe miano z „W” było ono we wszystkich przypadkach 2-krotnie wyższe. W tabeli nie przedstawiono wyników przy użyciu wirusa oczyszczanego riwanolem („WR”), ponieważ nastawiony z nim odczyn dla pierwszych 50 badanych surowic był mniej czuły; w 38 surowicach dawał niższe miano niż z „WE”, a w 12 surowicach równe z „WE”. Przy badaniu dalszych surowic nie używano tego antygeny

O m ó w i e n i e

Cztery badane szczepy wirusa rzekomego pomoru drobiu poddane działaniu eteru wykazały wzrost aktywności hemaglutynacyjnej zarówno dla krwinek kurzych, jak i krwinek

świnki morskiej. Uzyskane wyniki różnią się od danych Schäfera i Rota (10), którzy stwierdzili brak własności hemaglutynacyjnych po działaniu eteru na ten wirus. Różnice wyników tłumaczyć należy odmienną metodyką zabiegu eterowania. Wymienieni autorzy stosowali działanie eterem przez 12 godzin w temperaturze 37°C. To energiczniejsze działanie należy odnieść raczej do podwyższonej temperatury, a nie czasu działania, gdyż jak to wykazali Lief i Henle (6) oraz Paucker i współpracownicy (8) w badaniach wirusa grypy, przedłużenie czasu działania eteru z 1 do 16 godzin w temperaturze pokojowej wyraża się tylko nieznacznie większym efektem.

Wirus grypy poddany działaniu eteru wykazuje spadek miana hemaglutynacyjnego dla krwinek kurzych, a wzrost dla krwinek świnki morskiej (Lief i Henle — 6), natomiast w przypadku wirusa pomoru rzekomego zabieg eterowania wyrażał się wzrostem miana Ha zarówno dla krwinek kurzych jak i świnki morskiej, z tym, że dla tych drugich jest on znacznie wyraźniejszy.

Również oczyszczenie wirusa przy pomocy rivanolu dało wzrost miana Ha dla obu rodzajów krwinek.

Odczyn zahamowania hemaglutynacji przy użyciu wirusa poddanego działaniu eteru okazał się próbą bardziej czułą, co zgodne jest z wynikami Wernera i współpracownicy (13) przy grypie ludzkiej. Uzyskane dane posiadają jedynie wartość orientacyjną i wymagają przebadania na dużym materiale terenowym, szczególnie u ptaków szczepionych szczepami lentogenicznymi wirusa rzekomego pomoru. Będzie to możliwe w najbliższej przyszłości w związku z przewidywanym wprowadzeniem tych szczepów do szczepień masowych. Badania takie muszą uwzględnić również określenie czułości odczynu w różnych okresach reakcji immunologicznej szczepionych ptaków i porównanie z odpornością na challenge.

Wykonane doświadczenia nie pozwalają na wysuwanie wniosków dotyczących istoty wzrostu aktywności hemaglutynacyjnej oraz wzrostu czułości odczynu HI przez działanie eterem na wirus pomoru rzekomego kur. Biorąc jednak pod uwagę podobieństwo pewnych cech fizycznych i chemicznych tego wirusa i wirusa grypy ludzkiej można przypuszczać istnienie podobnego mechanizmu działania eteru. Wzrost aktywności hemaglutynacyjnej wirusa grypy jest zdaniem Hoyle'a (cyt. wg Schramma — 11) wynikiem rozpuszczania przez eter lipidowej błony otaczającej cząsteczkę wirusową, wskutek czego dochodzi do uwolnienia dużej ilości zawartych we wnętrzu małych cząsteczek hemaglutynujących. Zdaniem Lief'a i Henle'go (6) eter powoduje jedynie zmiany na powierzchni wirusa, wyrażające się zmniejszeniem się ilości „stref recepto-

rowych” dla krwinek kurzych, a wzrostem ilości takich stref dla krwinek świnki morskiej. W naszych doświadczeniach wirus pomoru rzekomego poddany działaniu eteru wykazywał wzrost aktywności dla obu rodzajów krwinek, jednak większy dla krwinek świnki morskiej, co również można by tłumaczyć zmianami ilościowymi „stref receptorowych” na powierzchni cząsteczki wirusowej.

Wzrost czułości odczynu HI przy użyciu wirusa grypy poddanego działaniu eteru tłumaczają Werner i współpracownicy (13) jako wynik usunięcia antygeny rozpuszczalnego, który mieszcząc się na powierzchni wirusa, utrudnia reakcję przeciwciała z hemaglutyniną.

Piśmiennictwo

1. Beach J. R.: The application of HI test in diagnosis of avian pneumoencephalitis. J. Amer. Vet. Med. Assoc. 112, 85, 1948.
2. Burnet F. M.: Principles of animal virology. New York 1955.
3. Larski Z.: Próby izolowania opornych na eter cząsteczek wirusa pomoru rzekomego kur (w przygotowaniu).
4. Larski Z.: Własności biologiczne wirusa pomoru rzekomego kur (szczep R) z hodowli jednowarstwowej komórek nerki świni (w przygotowaniu).
5. Levine P. P., Fabricant J.: Efficacy of Newcastle Disease vaccines under controlled conditions. Cornell Vet. 40, 449, 1952.
6. Lief F. S., Henle W.: Studies on the soluble antigen of influenza virus I. Virology 2 (6), 753—771, 1956.
7. Marek K., Raszevska H.: Informacja ustna.
8. Paucker K.: Studies on the structure of Influenza Virus. I. Components of infectious and incomplete particles. Virology 8 (1), 1—20, 1959.
9. Raggi L. G., Lee G. G.: Response of birds to one intranasal vaccination with B₁ strain of Newcastle Disease Virus. Avian Diseases 4 (2), 187—195, 1960.
10. Schäfer W., Rott R.: Untereinheiten des Newcastle Disease- und Mumps- Virus. Zeitschr. Naturforsch. 14 b (10), 629—631, 1959.
11. Schramm G.: Die Biochemie der Viren. Berlin 1954.
12. Szurman J., Larski Z.: Próby oczyszczania wirusa choroby cieszyńskiej. Med. Wet. 13 (3), 139—142, 1957.
13. Werner G. H., Sharma R., Gogolski L.: Hemagglutinin inhibition with ether treated antigen as a more sensitive method to measure the immunological response to an Asian Influenza Virus vaccine. Archges. Virusforsch. 10 (1), 7—18, 1960.
14. Zuffa A., Skoda R.: Vakcinacija proti Newcastelskiej chorobie. I. Immunita po vakcinaciji kmenom B₁. Veter. Casopis 7 (3), 211—226, 1958.

Adres autora: dr Zdzisław Larski, Puławy, ul. Partyzantów 55.

Лярски З. — РЕАКЦИЯ ТОРМОЖЕНИЯ ГЕМАГГЛУТИНАЦИИ С ВИРУСОМ ПСЕВДОЧУМЫ КУРИЦ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЗФИРА.

Воздействие зфира на жидкость хориона куриного зародыша зараженного вирусом псевдоchумы птиц выражается повышением гемагглютинационной активности вируса к эритроцитам курицы и морской свинки, при чем в последнем случае она более отчетлива. Это явление наблюдалось автором у 4-х штаммов псевдоchумного вируса птиц: Roakin, La Sota, F₁₀₇ и Hertfordshire и протекало наиболее интенсивно для штамма Roakin. Повышение гемагглютинационной активности получалось также после очистки вируса риванолом.

Чувствительность реакции НН также повышалась при использовании вируса после зфирного воздействия.

В предварительных ориентационных исследованиях 175 сывороток, в 132 случаях получался высший титр в сравнении со стандартной пробой.

Larski Z. — **The haemagglutination inhibition test with the Newcastle disease virus subjected to the action of ether.**

The action of ether on the allantoic fluid of the chick embryo infected with the Newcastle disease virus is expressed by the increased haemagglutination activity of the virus both towards the chick erythrocytes and guinea pig erythrocytes, towards the latter ones the activity increases considerably more clearly.

Such an action was found with the four examined strains of the Newcastle disease virus: Roakin, La-Sota, F₁₀₇ and Hertfordshire; it was most intensive with the strain Roakin.

The purification of the virus with Rivanol resulted also in the increase of the haemagglutination activity.

The HI test with the use of the virus subjected to the action of ether is more sensitive. In the preliminary orientation examinations of 175 sera, 132 of them showed a higher titre than in the standard test.

Larski Z. — **La reaction de l'arrêt de l'hémagglutination avec les virus de la maladie de Newcastle soumis à l'influence de l'éther.**

L'effet de l'éther sur le liquide allantoïde de l'embryon de poule infecté par le virus de la maladie de Newcastle s'exprime par l'activité accrue de l'hémagglutination du virus envers les globules sanguins des poules, de même que des cobayes — envers ces derniers cette activité s'accroît d'une manière beaucoup plus distincte.

Cet effet fut constaté pour 4 souches de la maladie de Newcastle investigées: Roakin, LaSota, F₁₀₇ et Hertfordshire. il fut le plus intense pour la souche Roakin.

La purification du virus à l'aide du rivanol avait de même pour effet un accroissement de l'activité de l'hémagglutination.

La réaction HI avec l'emploi du virus soumis à l'action de l'éther est très sensible. Dans les recherches préliminaires de 175 sérums, 132 démontraient un titre plus élevé que dans l'épreuve standard.

Larski Z.: **Haemagglutinationshemmung mit dem der Aethereinwirkung unterzogenen Pseudopestvirus der Hühner.**

Die Aethereinwirkung auf die Allantoisflüssigkeit des mit Pseudopestvirus der Hühner infizierten Hühnerembryons zeichnet sich durch wachsende haemagglutinische Aktivität sowohl den Hühner — wie auch den Meerschweinchenerythrocyten gegen über, aus. Diese Wirkung wurde auf 4 untersuchten Stämmen des Pseudopestvirus festgestellt und zwar: Roakin, LaSota, F₁₀₇ und Hertfordshire; am stärksten trat sie beim Stamm Roakin auf. Auch eine Virusreinigung mit Rivanol verstärkte die haemagglutinische Aktivität.

Die HI Reaktion bei Anwendung von der Aethereinwirkung unterzogenem Virus ist mehr empfindlich. In den einleitenden Orientierungsuntersuchungen der 175 Sera, wiesen 132 einen höheren Titer als in der Standardprobe auf.

Z ZAGRANICZNEJ WETERYNARII

Klasyczne i nowoczesne metody rozpoznawania i leczenia w medycynie weterynaryjnej*)

Gdy prześledzi się rozwój patologii i terapii chorób wewnętrznych zwierząt w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat, widać, że część metod diagnostycznych i leczniczych wytrzymała próbę czasu, niemala zaś część została zapomniana. Zastrzec się należy, że nie można przeprowadzić paraleli między stosunkami przed drugą wojną światową a obecnymi, gdyż w ostatnich latach w praktyce weterynaryjnej punkt ciężkości przesunął się na inne gatunki zwierząt, jak również inne specjalności zawodowe. Zauważa się zmniejszenie znaczenia konia w praktyce weterynaryjnej, co gdzieś niegdzie znalazło również swoje odbicie w programach nauczania i stosunku uczącej się młodzieży. (U nas takiej sytuacji jeszcze się obserwuje — uwaga tłum.). Według autora stan taki uważać należy za niepokojący, gdyż sport jeździecki przeżywający obecnie renesans zawsze będzie wymagał specjalistów lekarzy weterynarii.

Niegdyś podobna sytuacja dotyczyła chorób psów. W owych czasach zainteresowanie tym kierunkiem było bardzo małe. Inaczej przedstawia się ta sprawa obecnie. Naturalnie dotyczy to sytuacji w Niemczech. U nas w dalszym ciągu patologia i terapia chorób koni zajmuje centralne miejsce i może nie zawsze jest to z korzyścią dla wszechstronnego wykształcenia adeptów sztuki lekarsko-weterynaryjnej. Przyczyny tego są jednak różnorodne i trudno w tym miejscu bliżej się nad tym rozwozić. Wówczas gdy

koń miał duże znaczenie (w Niemczech) w gospodarce rolnej, diagnostyka i terapia chorób kolkowych została rozwinięta do bardzo wysokiego poziomu. Znalazło to również odbicie w monografii Doeneckeego (obecnie już nieco przestarzałej — dop. tłum.). Wiele do myślenia daje fakt, że w 1956 roku pojawiła się na ten temat monografia w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej i wyszła spod pióra Krala. Autor artykułu nie wspomina o doniosłym wkładzie do sprawy rozpoznawania i leczenia schorzeń kolkowych u koni, jaki wniosła szkoła wiedeńska, a w szczególności E. Gratzl. Znacznym postępem w leczeniu (i rozpoznawaniu — dop. tłum.) było wprowadzenie przez Neumann-Kleinpaula sondy nosowo-żołądkowej. Nie obyło się przy tym bez dużych trudności, wyrazem czego zakaz stosowania sondy u koni wojskowych, wydany przez znanego kłasyka medycyny weterynaryjnej — Fröhnera. Fröhner uważał, że stosowanie sondy jest połączone z dużym niebezpieczeństwem. Długoletnia praktyka rozwiała podejrzenia i obawy, a sonda nosowo-przełykowa znalazła powszechne, codzienne zastosowanie i to nie tylko u koni, lecz również u bydła. Sonda żołądkowa Marek'a, która była prekursorem sondy Neumann-Kleinpaula nie znalazła szerszego rozpowszechnienia poza klinikami, z których wyszła. Wyjaśnieniem może być fakt, że nadaje się do stosowania u koni spokojnych, a więc prawie wyłącznie ras ciężkich lub pogrubionych.

W rozpoznaniu niektórych postaci morzyska znalazła też zastosowanie punkcja próbna jamy otrzewnowej, zapoczątkowana i wprowadzona przez Gratzla. Punkcję wykonuje się w celach rozpoznawczych przy

*) Na podstawie artykułu „Klassische und neuzeitliche Medikation in der Veterinärmedizin” — prof. dr K. Ulrich, Tierärztliche Umschau, 15, 9, 279—283 (1960).